昆虫钠通道的结构和与击倒抗性有关的基因突变

唐振华[1]，袁建忠[1]，庄佩君[1]，陶黎明[2,1]

（1. 中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所，上海　200032； 2. 上海市农药研究所，上海　200032）

摘要：击倒抗性(*kdr*)是指昆虫和其他节肢动物由于它们的神经系统对 DDT 和拟除虫菊酯类杀虫剂的敏感性降低而引起的抗性。电压敏感的钠通道是 DDT 和拟除虫菊酯类杀虫剂的主要靶标。已知拟除虫菊酯是通过改变位于神经膜上的这类通道而发挥其杀虫效果的，钠通道基因的点突变是产生 *kdr* 抗性的主要原因。40 年来 *kdr* 抗性一直是重要的研究课题，但近 10 年来在 *kdr* 分子生物学方面取得了很大进展。本文主要综述了 1996 年以来所取得的新进展，着重于钠通道的结构、在 14 种害虫中与 *kdr* 抗性相关的钠通道基因突变及其氨基酸序列的多态性。这些结果有助于对拟除虫菊酯改变钠通道的功能及其机理作进一步探究。

关键词：击倒抗性；电压敏感的钠通道；拟除虫菊酯；基因突变

中图分类号：Q965.9　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2004)06-0830-07

The structure of sodium channels and gene mutations associated with knockdown resistance in insects

TANG Zhen-Hua[1]， YUAN Jian-Zhong[1]， ZHUANG Pei-Jun[1]， TAO Li-Ming[2,1] (1. Institute of Plant Physiology and Ecology，Shanghai Institutes for Biological Sciences，Chinese Academy of Sciences，Shanghai 200032； 2. Shanghai Pesticide Research Institute，Shanghai 200032)

Abstract: Knockdown resistance (*kdr*) is used to describe resistance to DDT and pyrethroid insecticides that result from reduced sensitivity of the nervous system in insects and other arthropods. The voltage-sensitive sodium channels are important action targets of DDT and pyrethroids. Pyrethroids are known to exert their insecticidal effects by altering the function of these channels，and the point mutations of their genes are the primary cause for producing *kdr* resistance. *kdr* resistance has been the subject of sustained research interest for more than 40 years，but the past decade has witnessed significant advances in the identification of the mechanisms underlying *kdr* resistance at the molecular level. This paper mainly reviews new advances on molecular biology of *kdr* resistance obtained since 1996，with emphasis on the structure of voltage-sensitive sodium channel subunit，gene mutations associated with *kdr* resistance among 14 species of pest arthropods and their amino acid sequence polymorphisms. These results can provide new insight into the mechanisms by which pyrethroids modify the function of voltage sodium channels.

Key words: Knockdown resistance； voltage-sensitive sodium channel； pyrethroid； gene mutations

众所周知，电压敏感的钠通道是包括 DDT 和拟除虫菊酯类杀虫剂在内的各类神经性毒剂的一个主要靶标。这些毒剂可影响钠通道的许多功能性特性，如导电性、离子选择性、活化和失活(Narahashi，1989；唐振华，1993)。它们广泛地作为探测钠通道亚基功能区特性的探针。这些神经性毒剂通常根据它们位于钠通道上独特的结合部位进行分类。例如 DDT 和拟除虫菊酯类杀虫剂，虽然结构不同，但可因改变钠通道门控(gating)而引起重复发放或神经膜去极化。目前拟除虫菊酯对钠通道的电生理影响虽已明确，但对钠通道和除虫菊酯之间的分子作用的了解仍很粗浅。击倒抗性(knockdown resistance，*kdr*)为研究钠通道的功能和钠通道与拟除虫菊酯之间的分子作用提供了一种有用的综合途径。

鉴于拟除虫菊酯具有高效低毒的特性而被广泛地用于防治农业害虫和媒介害虫。但是它们的大量使用，使许多害虫对它们产生了抗药性(唐振华和毕强，2003)。由钠通道靶标部位的敏感度降低而引起

基金项目：国家重点基础发展规划项目(2003CB114403)；国家自然科学基金项目(30230072)

作者简介：唐振华，男，1939 年 2 月生，研究员，博士生导师，E-mail：tangzh@public6.sta.net.cn

收稿日期 Received：2004-02-29；接受日期 Accepted：2004-04-01

对DDT和拟除虫菊酯的抗性称为击倒抗性或击倒型抗性（*kdr*-type resistance）。Busvine（1951）首先在一个抗DDT家蝇品系中报道了这类抗性。后来Sawicki（1979）报道了一个家蝇品系对拟除虫菊酯的抗性高达500倍，称之为超击倒抗性（*super-kdr*）。*kdr*抗性的特征是对所有拟除虫菊酯、除虫菊素以及DDT的迅速麻痹和致死作用均呈现抗性，但并不减低其他各类杀虫剂的杀虫效果。

遗传学图谱研究表明，在家蝇中*kdr*和*super-kdr*位于染色体Ⅲ上，并证明*kdr*抗性是与*para*型钠通道基因紧密连锁的（Williamson *et al.*，1993）。在烟芽夜蛾*Heliothis virescens*（Taylor *et al.*，1993）、德国小蠊*Blatella germanica*（Dong and Scott，1994）、马铃薯甲虫*Leptinotarsa decemlineata*（Lee *et al.*，1999）和烟粉虱*Bemisia tabaci*（Morin *et al.*，2002）中也作了同样的报道。随着分子生物学的发展，在1996年后发现这类抗性与*para*型钠通道基因某些位点的氨基酸突变有关（唐振华和毕强，2003；Soderlund and Knipple，2003）。本文综述了昆虫钠通道的结构与功能、与*kdr*抗性有关的基因突变及其基因序列的多态性，以利于进一步了解*kdr*抗性的分子机理。

1　钠通道的结构与功能

为了便于阐述*kdr*抗性分子生物学，先对钠通道的结构与功能作一概述，有关钠通道的功能机理、作用于钠通道的杀虫剂和其他毒剂以及它们的作用位点等详见《杀虫剂作用的分子行为》一书中的有关章节（唐振华和毕强，2003）以及Hille和Catterall（1999）的综述。根据其功能，钠离子通道由3部分组成：①选择性滤器（selectivity filter），位于细胞外膜，允许适当大小和适当电荷的离子通过，钠离子有高度的选择性，最易通过；②电压传感器（voltage sensor），位于内、外膜之间，对膜电位变化敏感，可控制闸门的开关；③闸门，位于内膜，为通道的内侧口，当膜上带电粒子作电荷运动时引起一个电压依赖性变化，因此在Na^+通透之前的瞬间，产生微弱的门控电流或门电流（gating current），其大小约为钠电流的0.3%。由此可见，钠通道有3大特征：①对钠离子的高度选择性；②电压依赖性激活；③电压依赖性失活。钠通道是由一个主要亚基（α亚基）和两个较小的辅助亚基（β_1和β_2）组成，这个大的α亚基形成离子渗透洞孔，而较小的β亚基在调节通道功能中起着关键的作用。钠通道α亚基蛋白约由1 800～2 500个氨基酸残基组成，它们的共同结构的特征如图1（B）所示。都含4个大的同源结构域（Ⅰ～Ⅳ），每个结构域有6个疏水性跨膜螺旋体（S1～S6），以及一个S5～S6之间保守序列元件，后者形成离子孔道。在每个同源结构域的S4区域中还含有一个保守元件，其特点是带正电荷氨基酸的一个重复基序（repeated motif），形成通道的电压敏感元件，即电压传感器。在同源结构域Ⅲ和Ⅳ之间有一个短的保守序列片段，它是通道的失活门（inactivation gate）。肽链的N端和C端都在膜的细胞质一侧。N端位于结构域Ⅰ的前面，由110个氨基酸残基组成。C端位于结构域Ⅳ的后面，由315个氨基酸组成。糖基化位点位于结构域Ⅰ和Ⅲ的膜外部分。图1（A）是钠通道的横切面，如图所示，钠通道的4个同源结构域围绕在一起，中间即为离子通道，每个结构域均形成跨膜结构。由于钠通道的离子选择性使得S4不可能位于通道的内壁，而可能位于其他片段之间，S4中的正电荷与S1、S3中的负电荷形成离子对，这一结构可以稳定跨膜螺旋结构。功能调节是由位于Ⅰ和Ⅱ之间接头部位的依赖cAMP蛋白激酶（cAMP-dependent protein kinases）及位于Ⅲ和Ⅳ之间接头部位的蛋白激酶C（protein kinase C）的磷酸化来进行的。β_1和β_2亚基也可被糖基化。β_1亚基以非共价键附着于α亚基，而β_2亚基是以二硫键共价的方式附着于α亚基。β亚基是完整的膜糖蛋白，这些糖蛋白与磷脂双层互相作用。糖基化对神经元中的功能性通道的生物合成和组成是必需的，如果糖基化被抑制，则新合成的α亚基迅速被降解，就不能插入膜。图1（C）描述了钠通道从关闭到开放的门控反应过程。每个结构域（Ⅰ～Ⅳ）都可由于电子移动而引起电压变化，使S4片段（电压传感器）移动，从而使其构象发生改变。在4个结构域的构象都发生改变后，跨膜口才开启，最终导致通道开放。无论是关闭状态（图1：C：Ⅰ～Ⅳ）还是开放状态均可因连接结构域Ⅲ和Ⅳ的细胞内环向内折叠而使通道失活。在开放状态，内环向内折叠产生快速失活，在关闭状态时产生慢失活。

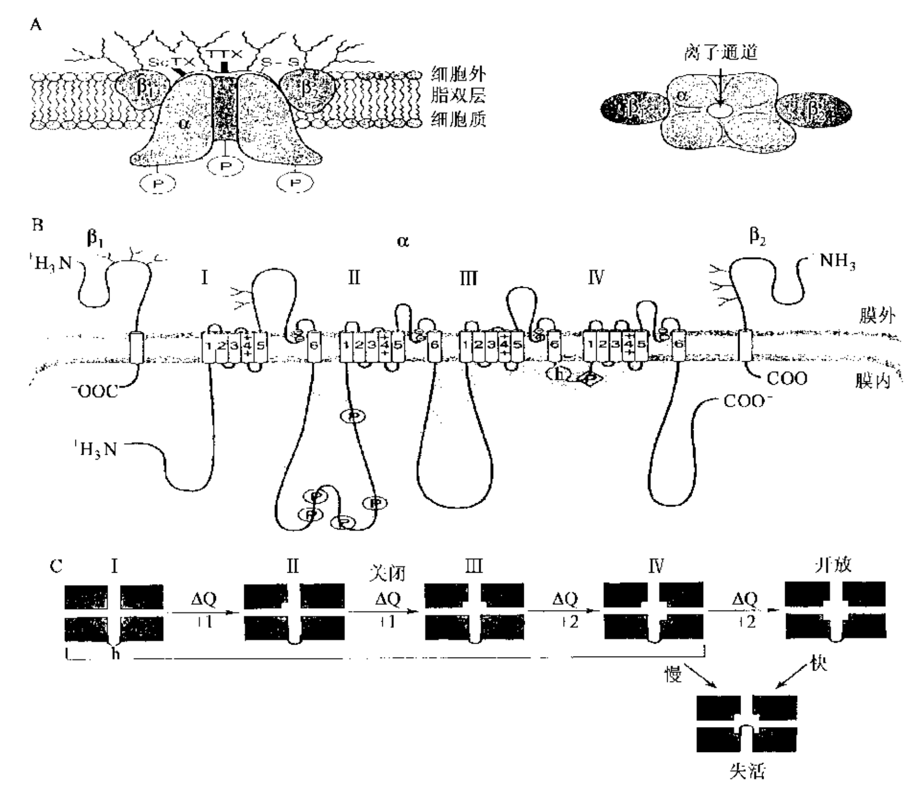


图 1 钠通道的结构模型

Fig. 1 Structural model of the sodium channel (Hille and Catterall, 1999)

A. 左图：大鼠脑 Na^+ 通道的拓扑模型，图示 3 个亚基推导的跨膜方向，河豚毒素(TTX)和蝎毒素(ScTX)的结合部位，寡糖链(图中以波纹线表示)和依赖 cAMP 的磷酸化部位(P)。右图：细胞外侧表观图，图示 α 亚基的 4 个跨膜结构域中的一个跨膜离子孔的形成。

B. Na^+ 通道 α 和 β 亚基的跨膜折叠模型。氨基酸序列以细线表示。跨膜 α 螺旋以圆锥表示。对 Na^+ 通道专一性功能所需要的氨基酸位置表示如下：+ + 表示 S4 跨膜片段中带正电荷的电压传感器；○表示对 TTX 高亲和性结合所需要的残基的电荷特性；ⓗ表示对快速活化所需要的残基；Ⓟ为由蛋白激酶 C 磷酸化的部位。

C. Na^+ 通道门控的程序。描述了 Na^+ 通道从关闭到开放的反应途径。每个方框表示 α 螺旋的一个同源结构域。每个结构域都经历由电压促使 S4 片段移动，从而引发构象改变，最终导致通道开放。从最后的关闭状态和开放状态均可因连接结构 Ⅲ 和 Ⅳ 的细胞内环向内折叠入跨膜孔的细胞内口而使通道失活。在开放状态向内折叠引起快速失活，在关闭状态向内折叠引起慢失活。

A. Left: A topological model of the rat brain Na^+ channel illustrating the probable transmembrane orientation of the three subunits, the binding sites for tetrodotoxin (TTX) and scorpion toxin (ScTX), oligosaccharide chains (wavy lines) and cAMP-dependent phosphorylation sites (P). Right: An enface view of the protein from the extracellular side illustrating the formation of a transmembrane ion pore in the midst of a square array of four transmembrane domains of the α subunit.

B. A transmembrane folding model of the α and β subunits of the Na^+ channel. The amino acid sequence is illustrated as a narrow line, with each segment approximately proportional to its length in the molecule. Transmembrane α-helices are illustrated as cylinders. The positions of amino acids required for specific functions of Na^+ channels are indicated: + +, positively charged voltage sensors in the S4 transmembrane segments; ○, residues required for high-affinity binding of TTX with their charge characteristics indicated by −, + or open field; ⓗ, residues required for fast inactivation; Ⓟ, sites for phosphorylation by protein kinase C.

C. Sequential gating of the Na^+ channel. A reaction pathway from closed to open Na^+ channels is depicted. Each square represents one homologous domain of the α subunit. Each domain undergoes a conformational change initiated by a voltage-driven movement of its S4 segment, leading eventually to an open channel. Inactivation of the channel occurs from the final closed state and the open state by folding of the intracellular loop connecting domains Ⅲ and Ⅳ into the intracellular mouth of the transmembrane pore.

在昆虫中目前已克隆和测序的钠通道基因有黑腹果蝇中的 *para* 基因、家蝇中的 *Vssc*1 基因(也称 *Msc* 基因)和烟芽夜蛾中的 *hscp* 基因。这些基因统称为 *para* 直向同源钠通道基因(*para*-orthologous sodium channel gene)，它们的结构和基因序列与脊椎动物钠通道非常类似(唐振华和毕强，2003)。至今在昆虫中未发现有辅助亚基 β_1 和 β_2，但最近在家蝇中发现了一个辅助亚基，该亚基是果蝇 *tipE* 基因的直向同源基因，在功能上类同于脊椎动物中的 β 亚基，而在结构上却是不相关的，该亚基称为 Vsscβ 亚基(Lee *et al*., 2000)。

由于 *tipE* 基因不但与 *para* 型基因连锁，而且对拟除虫菊酯是超敏感的(Hall and Kasbekar, 1989)，所以在 *kdr* 抗性分子生物学的研究中，经常应用果蝇中的温度诱导麻痹突变作用基因座 E(temperature-induced paralysis locus E, *tipE*)变异体来鉴定影响钠

通道活性的突变作用。

2 与击倒抗性相关的钠通道基因突变

自 1996 年发现家蝇 *kdr* 抗性与 *para* 型钠通道基因（*Vssc*1）的突变有关后，至今已在其他 13 种昆虫的 *para* 直向同源钠通道基因序列中作了鉴定，共发现了 20 个突变，现将包括家蝇在内的 14 种昆虫中与 *kdr* 抗性有关的钠通道氨基酸序列的多态性列于表 1。它们在钠通道蛋白中的位置如图 2 所示，在

表 1　昆虫 *kdr* 抗性涉及的钠通道氨基酸序列的多态性及其在不同结构域（Ⅰ～Ⅳ）跨膜片段序列（S1～S6）中的位点

Table 1　Sodium channel amino acid sequence polymorphisms associated with knockdown resistance and their positions in transmembrane sequences（S1－S6）of different domains（Ⅰ－Ⅳ）

结构域 Domains	*kdr* 突变位点* *kdr* mutations identified*	虫种 Species	文献 References
结构域Ⅰ			
N 端	D59G	*Bg*	Liu *et al*., 2000
S4～S5 内环	I253V	*Dm*	Lee and Soderlund, 2001
	I253N	*Dm*	Pittendrigh *et al*., 1997
S6	V410M	*Hv*	Park *et al*., 1997; Lee and Soderlund, 2001
ⅠS6～ⅡS1 接头	E435K	*Bg*	Liu *et al*., 2000
	C785R	*Bg*	Liu *et al*., 2000
结构域Ⅱ			
S4～S5 内环	M918T	*Md*	Williamson *et al*., 1996
	M918T	*Hi*	Guerrero *et al*., 1997
	M918V	*Bt*	Morin *et al*., 2002
	L925I	*Bt*	Morin *et al*., 2002
S5	T929I	*Px*	Schuler *et al*., 1998
	T929I	*Pc*	Lee *et al*., 2000
	L932F	*Pc*	Lee *et al*., 2000
S6	L1014F	*Md*	Ingle *et al*., 1996; Miyazaki *et al*., 1996; Williamson *et al*., 1996
	L1014F	*Hi*	Guerrero *et al*., 1997
	L1014F	*Px*	Schuler *et al*., 1998
	L1014F	*Mp*	Martinez-Torres *et al*., 1999a
	L1014F	*Ag*	Martinez-Torres *et al*., 1998
	L1014F	*Cp*	Martinez-Torres *et al*., 1999b
	L1014F	*Ld*	Lee *et al*., 1999
	L1014F	*Bg*	Miyazaki *et al*., 1996; Dong, 1997
	L1014H	*Hv*	Park and Taylor, 1997; Lee and Soderlund, 2001
	L1014S	*Cp*	Martinez-Torres *et al*., 1999a
	L1014S	*Ag*	Ranson *et al*., 2000
结构域Ⅲ			
S4～S5 内环	A1410V	*Dm*	Pittendrigh *et al*., 1997
S5～S6 内褶	A1494V	*Dm*	Pittendrigh *et al*., 1997
S6	M1524I	*Dm*	Pittendrigh *et al*., 1997
	F1538I	*Bm*	He *et al*., 1999
ⅢS6～ⅣS1 接头	D1549V	*Hv*, *Ha*	Head *et al*., 1998
	E1553G	*Hv*, *Ha*	Head *et al*., 1998
C 端	P1999L	*Bg*	Liu *et al*., 2000

* 编号的位置是根据家蝇 *Vssc*1 钠通道蛋白的氨基酸序列（GenBank 登录号：U38813）Positions numbered according to the amino acid sequence of the most abundant splice variant of the housefly *Vssc*1 sodium channel protein（GenBank accession number: U38813）

Dm: 黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*; *Md*: 家蝇 *Musca domestica*; *Hv*: 烟芽夜蛾 *Heliothis virescens*; *Ha*: 棉铃虫 *Helicoverpa armigera*; *Px*: 小菜蛾 *Plutella xylostella*; *Mp*: 桃蚜 *Myzus persicae*; *Cp*: 尖音库蚊 *Culex pipiens*; *Ag*: 冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae*; *Bg*: 德国小蠊 *Blattella germanica*; *Ld*: 马铃薯甲虫 *Leptinotarsa decemlineata*; *Hi*: 骚扰角蝇 *Hematobia irritans*; *Pc*: 头虱 *Pediculus capitis*; *Bm*: 微小牛蜱 *Boophilus microplus*; *Bt*: 烟粉虱 *Bemisia tabaci*.

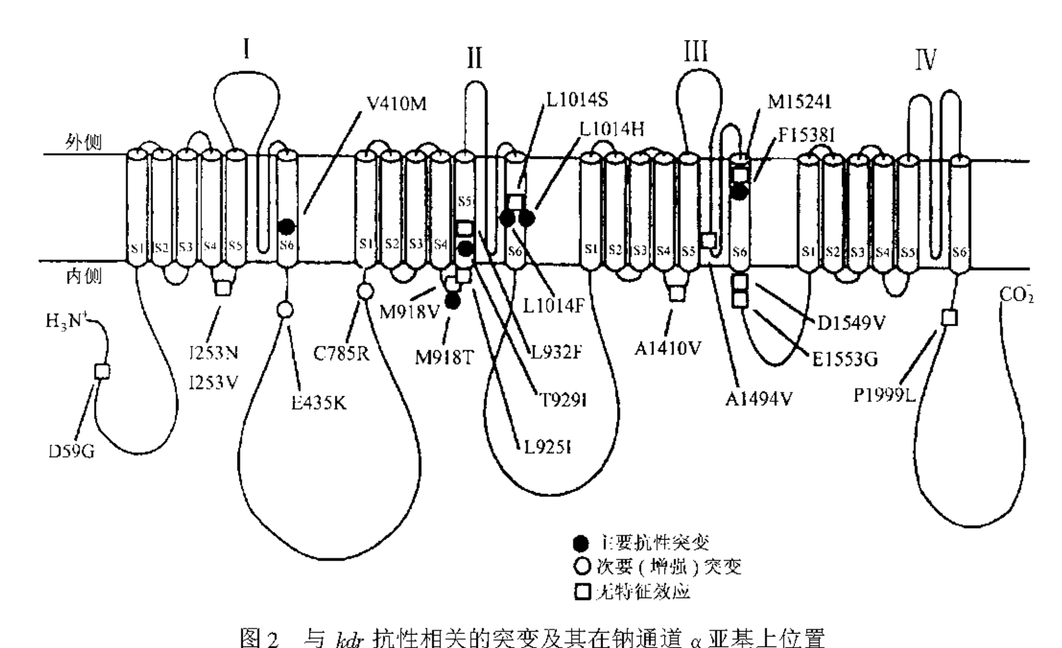


图 2 与 *kdr* 抗性相关的突变及其在钠通道 α 亚基上位置

Fig. 2 Mutation associated with *kdr* resistance and their locations in voltage-sensitive sodium channel α subunit

（Suderlund and Knipple，2003；唐振华和毕强，2003）

家蝇中有 2 个突变，即 L1014F 和 M918T，前者位于 ⅡS6 跨膜片段，呈现中等 *kdr* 抗性（10～30 倍）（Williamson *et al*.，1996；Dong，1997）。后者位于Ⅱ S4～S5 接头，与前者组合（L1014F/M918T）时，呈 *super-kdr* 抗性（Williamson *et al*.，1996）。在烟芽夜蛾（Park and Taylor，1997）、骚扰角蝇（Guerrero *et al*.，1997）、小菜蛾（Schuler *et al*.，1998）、桃蚜（Martinez-Torres *et al*.，1999a）、冈比亚按蚊（Martinez-Torres *et al*.，1998；Ranson *et al*.，2000）、尖音库蚊（Martinez-Torres *et al*.，1999b）和马铃薯甲虫（Lee *et al*.，1999）中发现了 *kdr* 突变 L1014F 和 2 个密切相关的突变体：L1014H 和 L1014S（表 1）。反之，家蝇 *super-kdr* 突变 M918T 仅在骚扰角蝇中检测到，并再一次发现 M918T 与 L1014F 突变组合时呈现高抗性（Guerrero *et al*.，1997）。在小菜蛾中报道了第 2 个 *super-kdr* 突变 T929I，该突变位于ⅡS5 片段的起始部位（图 2 和表 1）（Schuler *et al*.，1998）。在抗氯菊酯的人头虱中也发现了 T929I 突变（表 1）。从抗甲氰菊酯的烟粉虱中检测到 2 个突变：M918V 和 L925I，位于ⅡS4～S5 接头处，但只有后者与 *kdr* 抗性有关，前者可能与高的适合度缺陷（high fitness cost）有关（Morin *et al*.，2002）。

由上可见，*super-kdr* 抗性往往与在ⅡS4～S6 片段中存在的 2 个突变有关：在家蝇中为 M918T/L1014F，在小菜蛾中为 T929I/L1014F，在人头虱中为 T929I/L932F。

在与拟除虫菊酯抗性有关的 20 个独特的钠通道氨基酸序列多态性中，有 4 个突变位点是作为一个单独突变出现的：Val410（烟芽夜蛾中为 V410M）、Met918（烟粉虱中为 M918V）、Leu1014（几种昆虫中为 L1014F、烟芽夜蛾中为 L1014H 以及尖音库蚊和冈比亚按蚊中为 L1014S）和 Phe1538（微小牛蜱中为 F1538I）。6 个突变位点，即家蝇和骚扰角蝇中的 M918T、小菜蛾中的 T929I、德国小蠊中的 D59G、E435K、C785R 和 P1999L，在高抗性品系中是与 L1014F 组合的，其功能是作为次要突变位点。对由 L1014F 突变所引起的抗性可产生相加或增效作用（Soderlund and Knipple，2003）。余下几个抗性突变的作用尚不清楚，例如 L932F 突变在人头虱中仅是以与 T929I 组合的形式出现，而后者推测是一个次要突变位点。D1549V 和 E1553G 在抗性的烟芽夜蛾和棉铃虫中是一起出现的。还有 4 个突变是在温度敏感的果蝇 *para* 突变体中检测到的，这些突变体是根据行为表现型而不是根据毒理学表现型选育而得的。因此，这些位点的其他突变是否能影响拟除虫菊酯抗性而不会引起行为缺陷（behavioral deficits），目前尚不清楚。

与 *kdr* 抗性相关的氨基酸序列的多态性广泛地分布于钠通道 α 亚基蛋白上，但不是随意的（图 2 和表 1）。20 个突变中的大多数出现于结构域Ⅱ～Ⅲ，而结构域Ⅳ尚未发现与 *kdr* 抗性有关的突变。从图 2 和表 1 还可以看出，8 个突变分布于 S5～S6 跨膜片段（ⅠS6 有 1 个，ⅡS5 有 2 个、ⅡS6 有 3 个和ⅢS6 有 2 个），其中鉴定为单个突变的有 3 个（ⅠS6 的

V410M，ⅡS6 的 L1014F 和ⅢS6 的 F1538I）。在 S6 跨膜片段有 6 个突变（ⅠS6 的 V410M，ⅡS6 的 L1014F、L1014S、L1014H 和ⅢS6 的 M1524I、F1538I）。根据结构分析，这 6 个突变位于通道孔周围，位于通道孔的还有一个第 9 个突变位点，即 A1494V，该位点处于Ⅲ S5～S6 之间的通道孔形成区。分布于连接结构域Ⅰ、Ⅱ和Ⅲ的短的细胞内环（intracellular loop）的突变有 4 个：ⅠS4～S5 的 I253N、ⅡS4～S5 的 M918V、M918T 和ⅢS4～S5 的 A1410V，其中 A1410V 可起增效作用，增加由位于ⅢS6 的 M1524I 所引起的抗性。4 个突变（E435K，C785R，D1549V 和 E1553G）位于各同源结构域细胞内接头的开端或末端。不适用于上述各种类型的一些独特的突变是 D59G 和 P1999L，它们仅发现于德国小蠊的个别高抗性品系中，推测是次要突变位点。

3 结语和展望

近 10 年来的研究结果证明，昆虫电压敏感的钠通道基因中的点突变是对 DDT 和拟除虫菊酯产生抗性的主要原因。遗传学连锁试验和靶标 DNA 测序研究都已确证，各种昆虫中的钠通道基因都是与黑腹果蝇的 *para* 基因直向同源的。异源表达测定证实，引入这些 *kdr* 抗性突变的野生型钠通道，无论是单个突变还是组合突变都能降低对拟除虫菊酯（Ⅰ型和Ⅱ型）的敏感性。在异源表达的离体测定中，由这些突变所产生的抗性水平都发现与携有同样突变种群所引起的抗性水平是一致的。

这些研究不但阐明了产生 *kdr* 抗性的原因，而且对其分子机理也有了进一步了解，这些突变使 *para* 型钠通道蛋白的空间结构变构后，不但使钠通道对拟除虫菊酯的敏感性降低，而且还可改变钠通道门控的电压依赖性。

拟除虫菊酯作用首先要与钠通道蛋白的靶标位点结合，从而影响通道的关闭、开启或失活状态（图 1：C）。而 *kdr* 抗性突变可增强拟除虫菊酯从钠通道结合部位解离下来的作用，也就是说，这些突变直接影响拟除虫菊酯的结合。现已证明，有些突变出现于形成结合位点的残基，如前所述，大多数突变位于同源结构Ⅰ、Ⅱ和Ⅲ的 S6 跨膜片段，即形成通道的开口处。因此，S6 片段的移动对钠通道门控起活化作用，况且还证明位于该区域的残基与拟除虫菊酯互相作用呈现正变构结合作用（positive allosteric binding interactions）。由此可以推测，拟除虫菊酯受体是由位于同源结构域Ⅰ和Ⅱ之间界面的ⅠS6 和ⅡS6 片段形成的（Lee and Soderlund，2001），但这种推测无法解释由ⅡS5 区域的突变（T929I）或ⅢS6 片段的突变（F1538I）所引起的抗性。

目前有关这方面的讨论都是基于每个钠通道的 α 亚基仅存在一个拟除虫菊酯结合部位。但是，Vais 等（2000）根据对溴氰菊酯的很陡的浓度反应曲线和由溴氰菊酯诱导的尾电流的双相衰退，认为每个野生型 *para*/*tipE* 通道对溴氰菊酯存在 2 个结合位点。有关拟除虫菊酯的结合位点及其与 *kdr* 抗性突变之间的关系也将会作更深入的研究。

kdr 抗性突变的鉴定为设计能检测单个昆虫抗性等位基因分子诊断工具提供了机遇，从而发展了几个用于检测某些突变的早期诊断方法（唐振华和毕强，2003）。虽然这些检测可用于确定野外种群的抗性等位基因频率和监测其动态变化，对抗性治理是很有用的，但也存在一定的局限性，即仅局限于少数几个与 *kdr* 抗性有关的单个突变，但从表 1 可见，*kdr* 抗性突变体存在多态性，所以在应用解释这些分子检测结果时必须小心。

参 考 文 献（References）

Busvine JR，1951. Mechanism of resistance to insecticide in houseflies. *Nature*，168：193－195.

Dong K，1997. A single amino acid change in the para sodium channel protein is associated with knockdown-resistance（*kdr*）to pyrethroid insecticides in the German cockroach. *Insect Biochem. Mol. Biol.*，27：93－100.

Dong K，Scott JG，1994. Linkage of *kdr*-type resistance and the *para*-homologous sodium channel gene in German cockroaches（*Blattella germanica*）. *Insect Biochem. Mol. Biol.*，24：647－654.

Guerrero FD，Jamroz RC，Kammlah D，Kunz SE，1997. Toxicological and molecular characterization of pyrethroid-resistant houseflies，*Haematobia irritans*：identification of *kdr* and *super-kdr* point mutations. *Insect Biochem. Mol. Biol.*，27：745－755.

Hall LM，Kasbekar DP，1989. *Drosophila* sodium channel mutations affect pyrethroid sensitivity. In：Narahashi T，chambers JE eds. Insecticide Action：From Molecular to Organism. New York：Plenum Press. 99－114.

He H，Chen AC，Davey RB，Ivie GW，George JE，1999. Identification of a point mutation in the *para*-type sodium channel gene from a pyrethroid-resistant cattle tick. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*，261：558－561.

Head DJ，McCaffery AR，Callaghan A，1998. Novel mutations in the *para*-homologous sodium channel gene associated with phenotypic expression of nerve insensitivity resistance to pyrethroid in Heliothine Lepidoptera. *Insect Mol. Biol.*，7：191－196.

Hille B，Catterall WA，1999. Electrical exatability and ion channels. In：

Siegel I *et al*. eds. Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects (6th ed.). Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers. 119 – 138.

Ingles PJ, Adams PM, Knipple DC, Soderlund DM, 1996. Characterization of voltage-sensitive sodium channel gene coding sequences from insecticide-susceptible and knockdown-resistant housefly strains. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 26: 319 – 326.

Lee SH, Dunn JB, Clark JM, Soderlund DM, 1999. Molecular analysis of *kdr*-like resistance in a permethrin-resistant strain of Colorado potato beetle. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 63: 63 – 75.

Lee SH, Soderlund DM, 2001. The V410M mutation associated with pyrethroid resistance in *Heliothis virescens* reduces the pyrethroid sensitivity of housefly sodium channels expressed in *Xenopus oocytes*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 31: 19 – 29.

Lee SH, Yoon KS, Williamson MS, Goodson SJ, Takano-Lee M, Edman JD, Devonshire AL, Clark JM, 2000. Molecular analysis of *kdr*-like resistance in permethrin-resistant strains of head lice, *Pediculus capitis*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 66: 130 – 143.

Liu Z, Valles SM, Dong K, 2000. Novel point mutations in the German cockroach *para* sodium channel gene are associated with knockdown resistance (*kdr*) to pyrethroid insecticide. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 30: 991 – 997.

Martinez-Torres D, Chandre F, Williamson MS, Darriet F, Bergé JB, Devonshire AL, Guillet P, Pasteur N, Pauron D, 1998. Molecular characterization of pyrethroid knockdown resistance (*kdr*) in the major malaria vector *Anopheles gambiae* s.s. *Insect Mol. Biol.*, 7: 179 – 184.

Martinez-Torres D, Foster SP, Field LM, Devonshire AL, Willamson MS, 1999a. A sodium channel point mutation is associated with resistance to DDT and pyrethroid insecticides in the peach-potato aphid, *Myzus persicae*(Sulzer)(Hemiptera: Aphididae). *Insect Mol. Biol.*, 8: 339 – 346.

Martinez-Torres D, Chevillon C, Brun-Barale A, Bergé JB, Pasteur N, Pauron D, 1999b. Voltage-dependent Na^+ channels in pyrethroid-resistant *Culex pipiens* (L.) mosquitoes. *Pestic. Sci.*, 55: 1 012 – 1 020.

Miyazaki M, Ohyama K, Dumlap DY, Matsumura F, 1996. Cloning and sequencing of the *para*-type sodium channel gene from susceptible *kdr*-resistant German cockroaches (*Blattella germanica*) and housefly (*Musca domestica*). *Mol. Gen. Genet.*, 252: 61 – 68.

Morin S, Williamson MS, Goodson SJ, Brown JK, Tabashnik BE, Dennehy TJ, 2002. Mutations in the *Bemisia tabaci para* sodium channel gene associated with resistance to a pyrethroid plus organophosphate mixture. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 32: 1 781 – 1 791.

Narahashi T, 1989. The role of ion channels in insecticide action. In: Narahashi T, Chambers JE eds. From Molecular to Organism. New York and London: Phenum Press. 55 – 84.

Park Y, Taylor MFJ, 1997. A novel mutation L1029H in sodium channel gene *hscp* associated with pyrethriod resistance for *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae). *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 27: 9 – 13.

Park Y, Taylor MFJ, Feyereisen R, 1999. Voltage-gated sodium channel genes *hscp* and *hDSC1* of *Heliothis virescens* F. genomic organization. *Insect Mol. Biol.*, 8: 161 – 170.

Pitendrigh B, Reenan R, Ffrench-Constant RH, Ganetzky B, 1977. Point mutations in the *Drosophila* sodium channel gene *para*-associated with resistance to DDT and pyrethroid insecticides. *Mol. Gen. Genet.*, 256: 602 – 610.

Ranson H, Jensen B, Vulule JM, Wang X, Hemingway J, Collins FH, 2000. Identification of a point mutation in the voltage-gated sodium channel gene of Kenyan *Anopheles gambiae* associated with resistance to DDT and pyrethroids. *Insect Mol. Biol.*, 9: 491 – 497.

Sawicki RM, 1978. Unusual response of DDT-resistant houseflies to carbinol analogues of DDT. *Nature*, 275: 443 – 444.

Schuler TH, Martinez-Torres D, Thompson AJ, Denholm I, Devonshire AL, Duce IR, Williamson MS, 1998. Toxicological eletrophysiological, and molecular characterization of knockdown resistance to pyrethroid insecticides in the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). *Pestic Biochem. Physiol.*, 59: 169 – 192.

Soderlund DM, Lee SH, 2001. Point mutations in homology domain Ⅱ modify the sensitivity of rat Na_v 1.8 sodium channels to the pyrethroid cismethrin. *Neuro-Toxicology*, 22: 755 – 765.

Soderlund DM, Knipple DC, 2003. The molecular biology of knockdown resistance to pyrethroid insecticides. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 33: 563 – 577.

Tang ZH, 1993. Insect Resistance to Insecticides and its Management. Beijing: Agriculture Press. 302 – 335.[唐振华, 1993. 昆虫抗药性及其治理. 北京: 农业出版社. 302 – 335]

Tang ZH, Bi Q, 2003. Molecular Behavior of Insecticide Action. Shanghai: Fast East Publishers. 327 – 351; 649 – 655. [唐振华, 毕强, 2003. 杀虫剂作用的分子行为. 上海: 远东出版社. 327 – 351; 649 – 655]

Taylor MFJ, Hechel DG, Brown TM, Kreitman ME, Black B, 1993. Linkage of pyrethroid insecticide resistance to a sodium channel locus in the tobacco budworm. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 23: 763 – 775.

Vais J, Williamson MS, Goodson SJ, Devonshire AL, Warmke JW, Usherwood PNR, Cohen CJ, 2000. Activation of *Drosophila* sodium channels promotes modification by deltamethrin: reductions in affinity caused by knockdown resistance mutations. *J. Gen. Physiol.*, 115: 305 – 318.

Williamson MS, Denholm I, Bell CA, Devonshire AL, 1993. Knockdown resistance (*kdr*) to DDT and pyrethroid insecticides maps to a sodium channel gene locus in the housefly (*Musca domestica*). *Mol. Gen. Genet.*, 240: 17 – 22.

Williamson MS, Martinez-Torres D, Hick CA, Devonshire AL, 1996. Identification of mutations in the housefly *para*-type sodium channel gene associated with knockdown resistance (*kdr*) to pyrethroid insecticides. *Mol. Gen. Genet.*, 252: 51 – 60.

(责任编辑: 黄玲巧)